

Departement für Nutztiere
Abteilung für Schweinemedizin
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Leitung: Prof. Dr. med. vet. Heiner Bollwein

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von Dr. med. vet. Dolf Kümmerlen

**Vorkommen Chinolon-resistenter *Escherichia coli*
in Umgebungsproben aus Schweinebetrieben**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Sereina von Ah

Tierärztin
aus Giswil OW, Schweiz

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. X. Sidler, Referent
Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. R. Stephan, Korreferent

Zürich 2018

Inhaltsverzeichnis

ABSTRACT.....	1
ZUSAMMENFASSUNG	2
EINLEITUNG	3
MATERIAL UND METHODEN	5
RESULTATE	7
DISKUSSION.....	11
SCHLUSSFOLGERUNG.....	14
LITERATURVERZEICHNIS.....	15

Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich 2018

Sereina von Ah

Departement für Nutztiere, Abteilung für Schweinemedizin

cgeisingerr@vetclinics.uzh.ch

Occurrence of quinolone-resistant *Escherichia coli* in environmental samples from pig farms

Abstract

Fluoroquinolones undergo minimal metabolism in animals and are excreted via faeces and urine, where they enter the environment almost unchanged. This study investigated the presence of quinolone-resistant *Escherichia coli* (E. coli) in the environment of pig farms. The use of antibiotics was evaluated on 65 pig farms in 2015 and 2016 and environmental samples were collected. The samples were cultivated on a selective medium. In 45.2% of dust samples, 51.9% of wipe samples and 70.4% of liquid manure samples quinolone-resistant E. coli could be cultivated. The liquid manure samples were significantly more positive than the dust and wipe samples ($p < 0.01$). However, the occurrence of quinolone-resistant E. coli did not differ between farms with and farms without fluoroquinolone use during the two years under investigation ($p > 0.05$). The susceptibility test of quinolone-resistant E. coli showed that 62% of all strains tested were resistant to at least three different classes of antibiotics. Quinolone-resistant E. coli are therefore widespread in the environment of pig farms. This is of great concern because such isolates are often multi-resistant.

Keywords

Quinolone resistance, fluoroquinolones, liquid manure samples, resistance profile, pigs, dust samples

Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich 2018

Sereina von Ah

Departement für Nutztiere, Abteilung für Schweinemedizin

cgeisinger@vetclinics.uzh.ch

Vorkommen Chinolon-resistenter *Escherichia coli* in Umgebungsproben aus
Schweinebetrieben

Zusammenfassung

Da Fluorchinolone im Tier kaum verstoffwechselt und über den Kot und Urin ausgeschieden werden, treten sie nahezu unverändert in die Umwelt ein. In dieser Studie wurde das Vorkommen Chinolon-resistenter *Escherichia coli* (*E. coli*) in der Umgebung von Schweinebetrieben untersucht. Von 65 Schweinebetrieben wurde der Antibiotikumsatz für die Jahre 2015 und 2016 ausgewertet und Umgebungsproben gesammelt. Die Proben wurden auf einem Selektivmedium kultiviert. In 45.2% der Staubproben, 51.9% der Wischproben und 70.4% der Gülleproben konnten Chinolon-resistente *E. coli* kultiviert werden. Die Gülleproben waren signifikant häufiger positiv als die Staub- und Wischproben ($p < 0.01$). Das Vorkommen Chinolon-resistenter *E. coli* hat sich allerdings zwischen Betrieben mit und Betrieben ohne Fluorchinoloneinsatz in den untersuchten zwei Jahren nicht unterschieden ($p > 0.05$). Die Sensibilitätsprüfung der Chinolon-resistenten *E. coli* zeigte, dass 62% aller getesteten Stämme gegen mindestens drei verschiedene Antibiotikaklassen resistent waren. Chinolon-resistente *E. coli* sind in der Umgebung von Schweinebetrieben weit verbreitet. Dies ist von spezieller Bedeutung, da die Daten zeigen, dass solche Isolate oft multiresistent sind.

Schlüsselwörter

Chinolonresistenz, Fluorchinolone, Gülleproben, Resistenzprofil, Schwein, Staubproben

Einleitung

Antibiotikaresistenzen werden von der WHO als eine der grössten Herausforderungen für das Europäische Gesundheitssystem angesehen ²¹. Weltweit werden grosse Bestrebungen unternommen die antimikrobiellen Resistenzen und die Verbreitung resistenter Bakterien weiter zu untersuchen, mit dem Ziel diese eindämmen zu können. Auch in der Schweiz wird diese Problematik von verschiedenen Seiten bearbeitet. Das Eidgenössische Departement des Inneren (EDI) und das Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung (WBF) haben in der Strategie Antibiotika Resistenzen (StAR) festgelegt, dass die Auswirkungen des Antibiotikumsatzes auf die Umwelt und dessen Rolle zur Weiterverbreitung von antibiotikaresistenten Bakterien intensiviert untersucht werden muss ⁶.

Der Einsatz von Antibiotika führt unumgänglich zu einer Selektion von resistenten Bakterien. Mit einem umsichtigen Einsatz von Antibiotika wird bezweckt, so wenig Tiere wie möglich einer antibiotischen Therapie zu unterziehen und damit auch so wenig Mikroorganismen wie möglich dem Selektionsdruck auszusetzen. In vielen Ländern Europas wurden unterschiedliche Mess- und Monitoringsysteme zur Überwachung des Antibiotikumsatzes in der Tiermedizin eingeführt ^{17,19}. Auch wenn sich die Messmethoden und Messeinheiten zum Teil unterscheiden, verfolgen diese Systeme doch alle das gleiche Ziel. Sie wollen durch die Schaffung von Transparenz den Antibiotikumsatz in der Tiermedizin einschränken und mit der Korrektur von Haltungs- und Managementbedingungen der Notwendigkeit einer antibiotischen Therapie vorbeugen.

Der Eintrag von Wirkstoffrückständen oder der Eintrag resistenter Bakterien durch eine antibiotische Therapie in die Umwelt ist eine weitere komplexe Thematik. Bei oraler Therapie mit Arzneimittelvormischungen kann durch Staubbildung oder Futterrückstände im Stall die Umgebungsflora direkt in Kontakt mit den Wirkstoffen treten⁸. Gewisse Wirkstoffe, wie zum Beispiel Tetracycline oder Fluorchinolone, werden im Schwein kaum metabolisiert und wirksam wieder ausgeschieden ^{18,20}. So konnten Hamscher et al. (2002) in Gülleproben einen erheblichen Gehalt an Tetracyclin nachweisen und die Akkumulation des Wirkstoffs in mit Gülle gedüngtem Boden aufzeigen ⁹. Unabhängig von der Applikationsart wird die mikrobielle Flora der behandelten Tiere immer einem Selektionsdruck ausgesetzt. So entsteht ein Pool an Keimen, mit zum Teil kaum bekannten Eigenschaften, der als Reservoir für die

Weitergabe von Resistenzmechanismen dienen kann ^{10,13}. Die Untersuchung von Indikatorkeimen wie *E. coli* auf Antibiotikaresistenzen gibt einen Einblick auf das Vorhandensein von Resistenzen in dem riesigen Bakterienreservoir in der Umgebung der Nutztiere. Wie lange sich Antibiotikarückstände oder resistente Bakterien in den unterschiedlichen Materialien halten können, wurde schon mehrfach untersucht. Hamscher et al. (2003) haben in Staubproben, die über 20 Jahre in einem Schweinebestand gesammelt und bei 4 °C gelagert wurden, beachtliche Antibiotikarückstandsmengen gefunden ⁸. Gibbs et al. (2006) haben in Windrichtung Luftproben vor und hinter einem Schweinestall auf resistente Bakterien untersucht. In den Luftproben im Stall waren 287 mal mehr resistente Keime vorhanden als in den Proben vor dem Stall. Die Dichte nahm in Windrichtung exponentiell ab und war 150 m hinter dem Stall noch 2.2 mal höher als vor dem Stall ⁷.

In der vorliegenden Studie wurde der Antibiotikumsatz in 65 Schweinebetrieben im Zeitraum 2015 und 2016 erhoben. Von besonderem Interesse war der Fluorchinoloneinsatz und das Vorkommen Chinolon-resistenter *E. coli* in der Stallumgebung.

Die hauptsächlichen molekularen Resistenzmechanismen zur Entstehung einer Chinolon/Fluorchinolon-Resistenz sind Mutationen in den chromosomal codierten *gyrA* und *parC* Genen. Dabei führen einzelne Mutationen zuerst zu einer Chinolon- und Mehrfachmutationen dann zusätzlich zu einer Fluorchinolonresistenz¹⁵. Um den möglichen Einfluss des Fluorchinoloneinsatzes in den Betrieben auf eine stufenweise Selektion von Chinolon/Fluorchinolon-resistenten *E. coli* abzuschätzen, wurden aus Umgebungsproben (Staub-, Gülle- und Wischproben von Buchtenwänden) Chinolon-resistente *E. coli* nachgewiesen. Folgende Fragestellungen wurden geprüft:

- Unterscheidet sich die Vorkommenshäufigkeit und die Keimzahl Chinolon-resistenter *E. coli* in den verschiedenen Umgebungsproben?
- Unterscheidet sich die Vorkommenshäufigkeit von Chinolon-resistenten *E. coli* zwischen Betrieben mit und ohne Fluorchinoloneinsatz in den Jahren 2015 und 2016?
- Welche Resistenzprofile weisen Chinolon-resistente *E. coli* Isolate auf?

Material und Methoden

Antibiotikumeinsatz in den Jahren 2015 und 2016

Von 65 Schweinebetrieben wurde der Antibiotikumverbrauch für die Jahre 2015 und 2016 erhoben. Dazu wurden vom Jahr 2015 von 34 Betrieben das Behandlungsjournal und von 24 Betrieben die Medikamentenabgabebelege der Bestandestierärzte/-innen ausgewertet. Im Jahr 2016 wurden von 56 Betrieben die Medikamentenabgabebelege ausgewertet. Von sieben Betrieben waren im Jahr 2015 und von neun Betrieben im Jahr 2016 keine oder nur unvollständige Daten zum Medikamentenverbrauch vorhanden.

Umgebungsproben aus Schweineställen

Im Jahr 2016 wurden von Mai bis November 65 Schweinebetriebe besucht (26 Abferkel-/ Ferkelaufzuchtbetriebe, 29 Mastbetriebe und 10 Deck-/ Wartebetriebe). Die Betriebe arbeiteten nach dem Prinzip der arbeitsteiligen Ferkelproduktion zusammen. Auf einem Betriebsrundgang wurden in den verschiedenen Stallabteilen (Abferkelzimmer, Absetzstall, Maststall, Galtssauenstall) Staubproben gesammelt. Dazu wurden horizontale Oberflächen, wie zum Beispiel die Deckel der Ferkelnester, Fensterbretter oder Rohrleitungen mit einem mit steriler 0.85%-iger Kochsalzlösung befeuchteten Baumwollstrumpf abgewischt. Zusätzlich wurden in zwei bis drei zufällig ausgewählten Buchten die Buchtenwände auf Tierhöhe ebenfalls mit einem befeuchteten Baumwollstrumpf abgerieben. Je nach baulicher Gegebenheit wurde eine Gülleprobe aus der Güllegrube oder, wenn diese nicht zugänglich war, eine Probe aus dem Güllekanal entnommen. Dazu wurden drei Proben à 1 Liter aus verschiedenen Tiefen bzw. an verschiedenen Stellen im Kanal entnommen, in einem Eimer gemischt und eine Probe von 300-500 ml abgefüllt. Die Umgebungsproben wurden bis zur Untersuchung bei -20 °C gelagert.

Labormethoden

Insgesamt wurden 279 Umgebungsproben auf das Vorkommen von *E. coli* mit einer phänotypischen Chinolonresistenz untersucht. Für den qualitativen Nachweis resistenter *E. coli* wurde durchschnittlich 1.91 g Probe 1:10 in Enterobacteriaceae

Enrichment Broth (EE-Broth; Oxoid Basel Schweiz) verdünnt und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Die Anreicherung wurde anschliessend auf Rapid-*E. coli* 2 Agar (Biorad, München), supplementiert mit 8 µg/ml Nalidixinsäure, ausgestrichen und über Nacht bei 37 °C kultiviert. Am Folgetag wurde dokumentiert, ob Chinolon-resistente *E. coli* (β-D-Glucuronidase und β-D-Galactosidase positiv) gewachsen sind. Für einen semiquantitativen Ansatz wurden die Proben, durchschnittlich 1.97 g, im Verhältnis 1:10 in 0.85%-iger Kochsalzlösung verdünnt und in einem Stomacher homogenisiert. Das Homogenat wurde in zwei Verdünnungsstufen (1:100, 1:1000) auf Rapid-*E. coli* 2 Agarplatten, supplementiert mit 8 µg/ml Nalidixinsäure, gespatelt. Nach einer Inkubation bei 37 °C über Nacht wurden die präsumptiven Kolonien ausgezählt. Von jeder positiven Probe wurde anschliessend ein *E. coli* Isolat, das zufällig ausgewählt wurde, mittels Agardiffusions-Methode⁵ auf die Empfindlichkeit gegen 16 verschiedene Wirksubstanzen untersucht. Folgende Wirksubstanzen wurden getestet: Amoxicillin-Clavulansäure (AMC30), Ampicillin (AM10), Azithromycin (AZM15), Cefazolin (CZ30), Cefepime (FEP30), Cefotaxime (CTX30), Chloramphenicol (C30), Ciprofloxacin (CIP5), Fosfomycin (FOS200), Gentamicin (GM10), Kanamycin (K30), Nalidixinsäure (NA30), Nitrofurantoin (F/M300), Streptomycin (S10), Sulfamethoxazole-Trimethoprim (SXT) und Tetracyclin (TE10) (Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland).

Daten Analyse und statistische Auswertung

Die Daten wurden in Microsoft Excel 2011 (Microsoft, Redmond, WA, USA) und R-Studio Version 0.99.902 (Free Software Foundation, Boston, MA, USA) ausgewertet und graphisch dargestellt. Die Prävalenz Chinolon-resistenter *E. coli* in den verschiedenen Probenarten wurde mit dem Pearson's Chi-squared Test verglichen. Die Anzahl Chinolon-resistenter *E. coli* in den unterschiedlichen Probenarten wurde mit dem Kruskal-Wallis rank sum test und dem Wilcoxon rank sum test verglichen. Die Prävalenz Chinolon-resistenter *E. coli* in den verschiedenen Betriebsarten wurde mit dem Fisher's Exact Test verglichen. Das Signifikanzniveau wurde jeweils bei $p < 0.05$ festgelegt.

Resultate

Fluorchinoloneinsatz in den Versuchsbetrieben 2015 / 2016

Im Jahr 2015 wurden in 17 von 58 (29.3%) Betrieben und im Jahr 2016 in 25 von 56 (44.6%) Betrieben Fluorchinolone eingesetzt. Werden die Betriebe nach Produktionsart unterteilt, wird ersichtlich, dass in beiden Jahren überwiegend Abferkel- und Ferkelaufzuchtbetriebe Fluorchinolone eingesetzt haben (Tabelle 1).

Tabelle 1: Aufteilung der Studienbetriebe mit Fluorchinoloneinsatz nach Betriebsart in den Jahren 2015 und 2016.

	Betriebe mit Fluorchinoloneinsatz	
	2015 (n=17)	2016 (n=25)
Abferkel-/ Ferkelaufzuchtbetriebe	82% (n=14)	64% (n=16)
Mastbetriebe	18% (n=3)	12% (n=3)
Deck-/ Wartebetriebe	0% (n=0)	24% (n=6)

Nachweis Chinolon-resistenter *Escherichia coli* in Umgebungsproben

Es wurden 104 Staubproben, 104 Wischproben und 71 Gülleproben auf das Vorkommen Chinolon-resistenter *E. coli* untersucht. In 45.2% der Staubproben, 51.9% der Wischproben und 70.4% der Gülleproben konnten Chinolon-resistente *E. coli* nachgewiesen werden. Die Gülleproben waren signifikant häufiger positiv als die Staub- und Wischproben ($p = 0.003$).

In den Staubproben wurden durchschnittlich 111 Koloniebildende-Einheiten (KBE), in der Wischprobe 40 KBE und in der Gülleprobe 11'831 KBE Chinolon-resistenter *E. coli* pro g bzw. ml Probe nachgewiesen. In den Gülleproben waren signifikant mehr Chinolon-resistente Kolonien nachzuweisen als in den Staub- bzw. den Wischproben ($p = 0.001$).

Die Vorkommenshäufigkeit Chinolon-resistenter *E. coli* unterscheidet sich zwischen den verschiedenen Betriebsarten nicht (Abferkel-/Ferkelaufzuchtbetriebe, Mastbetriebe, Deck-/Wartebetriebe) ($p = 0.127$). Ein Betrieb galt als positiv, wenn in mindestens einer Umgebungsprobe Chinolon-resistente *E. coli* nachgewiesen werden konnten. Von den Abferkel-/ Ferkelaufzuchtbetrieben waren 96.2% (25/26),

von den Mastbetrieben 79.3% (23/29) und von den Deck-/Wartebetrieben 80% (8/10) positiv.

Wird der Antibiotikumsatz der Jahre 2015 und 2016 zusammengefasst, haben 30 Betriebe in mindestens einem der beiden Jahre Fluorchinolone eingesetzt. In 26 Betrieben wurden in den zwei erfassten Jahren keine Fluorchinolone eingesetzt. Die Prävalenz Chinolon-resistenter *E. coli* lag bei den Betrieben mit Fluorchinoloneinsatz bei 93.3% (28/30) und bei den Betrieben ohne Fluorchinoloneinsatz bei 88.5% (23/26). Das Relative Risiko für einen Nachweis Chinolon-resistenter *E. coli* lag bei 1.06. Der Einsatz von Fluorchinolonen in den vorangegangenen zwei Jahren stellte somit keinen Risikofaktor für den Nachweis Chinolon-resistenter *E. coli* in den Betrieben dar.

Sensibilitätsprüfung der Chinolon-resistenten *E. coli* Isolate

Von den 279 Umgebungsproben wurden 284 Chinolon-resistente *E. coli* in Reinkultur subkultiviert und asserviert. Davon wurden 196 Isolate (57 aus Staub-, 62 aus Wisch-, 77 aus Gülleproben) zufällig ausgewählt und auf die Sensibilität gegen 16 antibiotische Wirkstoffe aus 10 Wirkstoffklassen (Penicilline, Macrolide, Cephalosporine, Fenicole, Tetracycline, Phosphonsäure, Aminoglycoside, Nitrofurantoin, Chinolone und Sulfonamide) geprüft. In Abbildung 1 ist der prozentuale Anteil der nicht-sensiblen Isolate für die getesteten Wirkstoffe dargestellt. Von den mit Nalidixinsäure selektierten *E. coli* Isolate waren 38% auch gegen Ciprofloxacin resistent. Ciprofloxacin-resistente *E. coli* kamen unabhängig vom Fluorchinoloneinsatz auf den Betrieben in den Jahren 2015 / 2016 vor ($p = 0.55$). Nebst den Chinolonen (Nalidixinsäure und Ciprofloxacin) waren die Isolate am häufigsten gegen Streptomycin (69%), Tetracyclin (61%) und Sulfamethoxol-Trimethoprim (46%) resistent. Diese drei Coresistenzen kamen ebenfalls unabhängig vom jeweiligen Wirkstoffeinsatz (Streptomycin, Tetracyclin, Sulfonamid-Trimethoprim) in den Jahren 2015 / 2016 vor ($p > 0.26$).

Anteil sensibler und nicht-sensibler *E. coli* Isolate

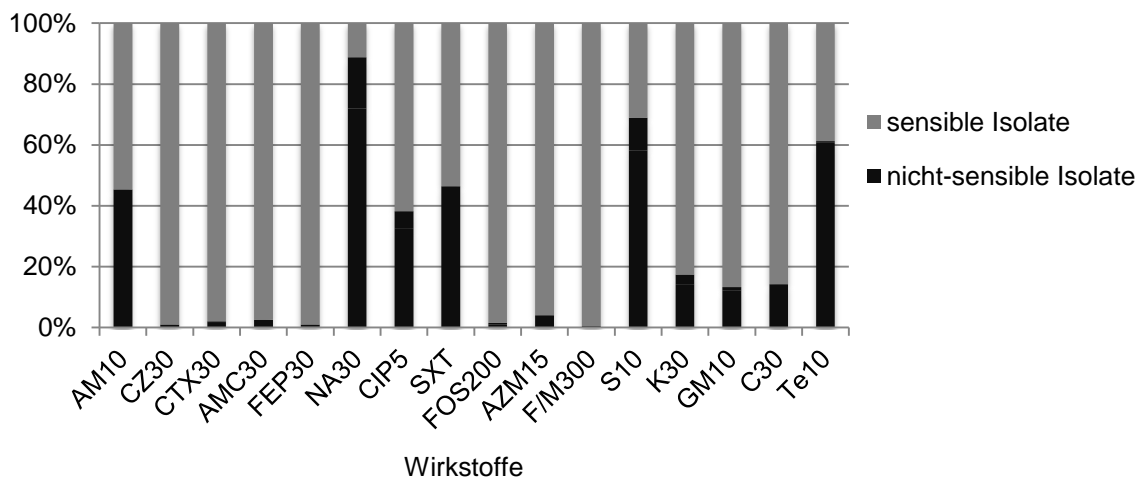


Abbildung 1: Resistenzprüfung Chinolon-resistenter *E. coli* Isolate gegen 16 antibiotische Wirkstoffe (AM10: Ampicillin, CZ30: Cefazolin, CTX30: Cefotaxime, AMC30: Amoxicillin with Clavulanic Acid, FEP30: Cefepime, NA30: Naladixic Acid, CIP5: Ciprofloxacin, SXT: Sulfamethoxazole with Trimethoprim, FOS200: Fosfomycin, AZM15: Azithromycin, F/M300: Nitrofurantoin, S10: Streptomycin, K30: Kanamycin, GM10: Gentamicin, C30: Chloramphenicol, TE10: Tetracycline). Anteil sensibler und nicht-sensibler *E. coli* Isolate.

Tabelle 2: Anteil *E. coli* Isolate mit Resistenz gegen mehrere Wirkstoffklassen.

Anz. Wirkstoffklassen	Anteil <i>E. coli</i> Isolate mit Resistenz gegen mehrere Wirkstoffklassen
0	3%
1	13%
2	22%
3	14%
4	19%
5 +	29%

In Tabelle 2 ist dargestellt, wie viel Prozent der Isolate gegen mehrere Wirkstoffklassen resistent waren. Von den untersuchten *E. coli* Isolaten waren 84% gegen mehr als eine Wirkstoffklasse resistent. Diese Isolate besaßen nebst der Chinolonresistenz, noch eine Resistenz gegen mindestens eine andere Wirkstoffklasse. Zweiundsechzig Prozent waren gegen mindestens drei und 29% gegen fünf und mehr Wirkstoffklassen resistent.

Diskussion

Fluorchinoloneinsatz in den Versuchsbetrieben 2015 / 2016

Mehr als die Hälfte der Versuchsbetriebe haben in mindestens einem der Jahre 2015 und 2016 Fluorchinolone eingesetzt. Vor allem in Abferkel- und Ferkelaufzuchtbetrieben war der Fluorchinoloneinsatz verbreitet.

Seit der Revision der Tierarzneimittelverordnung (TAMV SR 812.212.27) per 1. April 2016 dürfen in der Schweiz kritische Antibiotikaklassen wie die Cephalosporine der 3. und 4. Generation, die Makrolide und die Fluorchinolone nicht mehr auf Vorrat an Landwirte abgegeben werden ². Die Verkaufsmengen besagter Wirkstoffe nahmen darauf hin im Jahr 2016 um 23-25% ab ⁴.

In der vorliegenden Studie wurde der Einsatz von Fluorchinolonen qualitativ und nicht quantitativ erhoben, somit kann der mengenmässige Rückgang nach der Änderung der Tierarzneimittelverordnung nicht aufgezeigt werden. Zudem trat die Revision der Tierarzneimittelverordnung erst im April 2016 in Kraft. Betriebe, die nur im ersten Quartal 2016 Fluorchinolone eingesetzt haben, wurden trotzdem in die Verbrauchergruppe eingeteilt.

Im Jahr 2016 haben mehr Betriebe Fluorchinolone eingesetzt als im Jahr 2015. Dieser Anstieg kann mit der Auswertung unterschiedlicher Datenquellen zusammenhängen. Im Jahr 2015 wurden überwiegend die Aufzeichnungen der Landwirte im Behandlungsjournal ausgewertet. Die lückenhafte Dokumentation in den Behandlungsjournalen kann zu einer Unterschätzung des Fluorchinoloneinsatzes im Jahr 2015 geführt haben. Die Datenqualität war im Jahr 2016 mit der Auswertung der Medikamentenabgabebelege von den Tierärzten besser.

Nachweis Chinolon-resistenter *Escherichia coli* in Umgebungsproben

Das Verhalten von Antibiotikarückständen in der Umwelt ist sehr wirkstoffspezifisch ¹⁶. Die Untersuchungen von Marengo et al. (1997) zeigten, dass durch die starke Bindung an Sedimente Srafloxacin innert 80 Tagen zu weniger als 1% in der Erde abgebaut wird ¹². Wu et al. (2005) bestätigten dieses Ergebnis und zeigten, dass Enrofloxacin ohne Sonneneinstrahlung in der Umwelt mehr als 120 Tage stabil bleibt ²². Die lange Verweildauer von Chinolonen in der Umwelt stellt einen anhaltenden

Selektionsvorteil für Chinolon-resistente Bakterien dar. Dazu kommt, dass die Chinolonresistenz bei *E. coli* keinen gravierenden Einfluss auf ihre Fitness gegenüber dem Wildtyp zu haben scheint ¹¹. Obwohl in der Schwedischen Poulet Produktion der Fluorchinoloneinsatz streng limitiert ist, haben Björjesson et al. (2016) ausgehend von importierten Grosselterntieren Chinolon-resistente *E. coli* Isolate eines bestimmten Klons in allen Stufen der Schwedischen Pouletproduktion gefunden. Das bedeutet, dass sich Chinolon-resistente *E. coli* auch unabhängig von einem Selektionsvorteil über längere Zeit in der Umgebung halten können und mit dem Tierhandel verbreitet werden ³.

In der vorliegenden Studie konnte kein Unterschied in der Prävalenz von Chinolon-resistenten *E. coli* in den Umgebungsproben von Betrieben mit und Betrieben ohne Fluorchinoloneinsatz in den vorangegangenen zwei Jahren festgestellt werden. Dies kann an der langen Verweildauer von Chinolon-resistenten *E. coli* in der Umgebung liegen. Zudem arbeiteten die Studienbetriebe nach dem Prinzip der arbeitsteiligen Ferkelproduktion sehr eng zusammen. Der rege Tiertransport zwischen den Betrieben hat wahrscheinlich zur Verbreitung der Chinolon-resistenten *E. coli* von Betrieb zu Betrieb beigetragen.

Sucht man eine Korrelation zwischen der Ausscheidung von resistenten Bakterien im Kot und dem Antibiotikumsatz, sind alle antibiotischen Therapien über die gesamte Lebensdauer eines Tieres relevant, nicht nur jene kurz vor der Probenentnahme ¹. Der Fluorchinoloneinsatz wurde in dieser Studie auf Betriebsebene erhoben. Es bestand die Möglichkeit, dass zugekaufte Tiere, die zum Zeitpunkt der Probenentnahme auf einem Betrieb ohne Fluorchinoloneinsatz standen, auf ihrem Herkunftsbetrieb bereits mit Fluorchinolonen behandelt wurden. Dies ist eine weitere Erklärung dafür, dass auch auf Betrieben ohne Fluorchinoloneinsatz, Chinolon-resistente *E. coli* in den Umgebungsproben zu finden waren. Weiter kann die Coselektion der Chinolonresistenz beim Einsatz anderer antibiotischer Wirkstoffe zur Verschleierung des Zusammenhangs zwischen dem Fluorchinoloneinsatz und dem Vorkommen Chinolon-resistenter *E. coli* in den Umgebungsproben geführt haben ¹⁵.

In den Gülleproben war die Prävalenz und die Keimzahl Chinolon-resistenter *E. coli* signifikant höher als in den Staub- und Wischproben. Mit der Reinigung der Ställe werden Staub und Verschmutzungen an den Buchtenwänden regelmässig beseitigt. In der Güllegrube hingegen sammeln sich die Ausscheidungen mehrerer Umtriebe

an. Eine Reinigung oder komplette Leerung der Grube findet kaum statt. Die Untersuchung von Gülleproben bildet das Vorkommen Chinolon-resistenter *E. coli* daher über eine längere Zeitspanne ab und eignet sich grundsätzlich gut für eine Überwachung von Antibiotikumresistenzen. Die Probenentnahme war allerdings bei den Gülleproben nicht immer einfach. Um eine möglichst homogene Mischung zu entnehmen, muss die Gülle mit einem Rührwerk aufgerührt werden. Auf einigen Betrieben war die Güllegrube nicht zugänglich. Dort musste die Probe aus dem Güllekanal entnommen werden, wobei eine homogene Mischung der Gülle nicht möglich war.

Sensibilitätsprüfung der Chinolon-resistenten *E. coli* Isolate

Resistenzen gegen mehr als drei unterschiedliche Wirkstoffklassen waren bei den untersuchten Stämmen häufig zu finden. Die Resistenzprofile der getesteten Isolate zeigten nebst der Chinolonresistenz am häufigsten Resistenzen gegen Streptomycin, Tetracyclin und Sulfamethoxazole-Trimethoprim. Wird dieses Ergebnis mit den Antibiotikaverkaufszahlen in der Nutztiermedizin verglichen, sind die Resistenzen gegen die am häufigsten verkauften Wirkstoffklassen; Sulfonamide, Penicilline und Tetracycline gerichtet ⁴. Diese drei Wirkstoffklassen wurden auch in den Studienbetrieben häufig eingesetzt. Ein Zusammenhang zwischen dem Einsatz der Wirkstoffe und dem Nachweis der jeweiligen Resistenzen konnte allerdings weder für Streptomycin noch für Tetracyclin oder Sulfonamid-Trimethoprim gefunden werden. In der Studie von Myrenås et al. (2018) in Schweden wurden ebenfalls Chinolon-resistente *E. coli* aus der Pouletproduktion auf Resistenzen gegen weitere Wirkstoffe getestet. In ihrer Studie waren Resistenzen gegen mehrere Wirkstoffklassen eher selten, 8.3% der Isolate waren nebst den Chinolonen auch gegen Ampicillin und 5.3% gegen Sulfamethoxazole resistent ¹⁴.

Schlussfolgerung

Chinolon-resistente *E. coli* waren in den Umgebungsproben der Versuchsbetriebe verbreitet nachzuweisen. Dies ist von besonderer Bedeutung, da die untersuchten Chinolon-resistenten *E. coli* Isolate im Resistenzprofil häufig Mehrfachresistenzen aufwiesen. Ob die lange Persistenz von Chinolon-resistenten *E. coli* unabhängig von einem aktuellen Selektionsvorteil dazu beiträgt, dass die resistenten Bakterien über den Tiertransport von Betrieb zu Betrieb verbreitet werden können und welche Rolle die Coselektion im Feld spielt, soll Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

Literaturverzeichnis

1. Andersen VD, De Knecht L, Munk P, Jensen MS, Agersø Y, Aarestrup FM, et al.: The association between measurements of antimicrobial use and resistance in the faeces microbiota of finisher batches. *Epidemiology & Infection* 2017: 145(13): 2827-2837.
2. Anonymous: Verordnung über Tierarzneimittel (Tierarzneimittelverordnung, TAMV)- Änderung vom 11. März 2016. <https://www.admin.ch/opc/de/official-compilation/2016/961.pdf> (accessed 5.3.2018).
3. Börjesson S, Guillard T, Landén A, Bengtsson B, Nilsson O: Introduction of quinolone resistant *Escherichia coli* to Swedish broiler population by imported breeding animals. *Veterinary microbiology* 2016: 194: 74-78.
4. Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen: 2016 ARCH-Vet Kurzversion: Bericht über den Vertrieb von Antibiotika in der Veterinärmedizin in der Schweiz. <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/publikationen-und-forschung/statistiken-berichte-tiere.html> (accessed 5.3.2018).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100S*, Wayne, PA 19087 USA. 2016.
6. Eidg. Departement des Inneren Eidg. Departement für Wirtschaft Bildung und Forschung: Strategie Antibiotikaresistenzen Schweiz StAR. <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/das-blv/strategien/nationale-strategie-antibiotikaresistenzen.html> (accessed 5.3.2018).
7. Gibbs SG, Green CF, Tarwater PM, Mota LC, Mena KD, Scarpino PV: Isolation of antibiotic-resistant bacteria from the air plume downwind of a swine confined or concentrated animal feeding operation. *Environmental Health Perspectives* 2006: 114(7): 1032.
8. Hamscher G, Pawelzick HT, Sczesny S, Nau H, Hartung J: Antibiotics in dust originating from a pig-fattening farm: A new source of health hazard for farmers? *Environmental Health Perspectives* 2003: 111(13): 1590.
9. Hamscher G, Sczesny S, Höper H, Nau H: Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 2002: 74(7): 1509-1518.
10. Kruse H, Sørnum H: Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. *Applied and Environmental Microbiology* 1994: 60(11): 4015-4021.
11. Marcusson LL, Frimodt-Møller N, Hughes D: Interplay in the selection of fluoroquinolone resistance and bacterial fitness. *PLoS pathogens* 2009: 5(8).
12. Marengo JR, Kok RA, O'Brien K, Velagaleti RR, Stamm JM: Aerobic biodegradation of (14C) - Sarafloxacin hydrochloride in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1997: 16(3): 462-471.
13. Marshall BM, Levy SB: Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. *Clinical microbiology reviews* 2011: 24(4): 718-733.
14. Myrenås M, Slettemeås JS, Thorsteinsdóttir TR, Bengtsson B, Börjesson S, Nilsson O, et al.: Clonal spread of *Escherichia coli* resistant to cephalosporins and quinolones in the Nordic broiler production. *Veterinary microbiology* 2018: 213: 123-128.

15. Nakamura S: Mechanisms of Quinolone resistance. *Journal of Infection and Chemotherapy* 1997: 3(3): 128-138.
16. Sarmah AK, Meyer MT, Boxall AB: A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 2006: 65(5): 725-759.
17. Stege H, Bager F, Jacobsen E, Thougard A: VETSTAT—the Danish system for surveillance of the veterinary use of drugs for production animals. *Preventive veterinary medicine* 2003: 57(3): 105-115.
18. Sukul P, Lamshöft M, Kusari S, Zühlke S, Spiteller M: Metabolism and excretion kinetics of 14 C-labeled and non-labeled difloxacin in pigs after oral administration, and antimicrobial activity of manure containing difloxacin and its metabolites. *Environmental research* 2009: 109(3): 225-231.
19. Veldman KT, Mevius DJ, Wit B, Pelt Wv, Heederik D: MARAN 2017: Monitoring of Antimicrobial Resistance and Antibiotic Usage in Animals in the Netherlands in 2016. https://www.wur.nl/upload_mm/b/0/1/74ce6009-b112-428d-aeb7-99b95063aab6_Maran%20report%202017.pdf (accessed 5.3.2018).
20. Winckler C, Grafe A: Use of veterinary drugs in intensive animal production. *Journal of soils and sediments* 2001: 1(2): 66.
21. World Health Organization: *Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe*. World Health Organization, DK-2100 Copenhagen. 2011.
22. Wu Y-b, Wang Z-s, Liao X-d, Chen Z: Study on the excretion of enrofloxacin in chicken and its degradation in chicken feces. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* 2005: 36(10): 1069.

Danksagung

Besonderen Dank ist der Produzentenorganisation RUPROMI Swiss Schwein AG, der die 65 Studienbetriebe angehört haben, auszusprechen. Sie hat die Medikamentenaufzeichnungen der Landwirte für die Untersuchung zur Verfügung gestellt und die Sammlung der Umgebungsproben in den Ställen ermöglicht.

Curriculum Vitae

Vorname Name Sereina von Ah

Geburtsdatum 02.02.1992

Geburtsort Frauenfeld

Nationalität Schweiz

Heimatort Giswil OW

Schulausbildung

08/1998– 07/2004 Primarschule, 8535 Herdern, Schweiz

08/2004– 07/2006 Sekundarschule, 8536 Hüttwilen, Schweiz

08/2006– 07/2010 Kantonsschule, 8500 Frauenfeld, Schweiz

Höchster

Schulabschluss

02.07.2010 Matura, Kantonsschule, 8500 Frauenfeld, Schweiz

Studium

09/2010– 12/2015 Veterinärmedizin, Vetsuisse Fakultät Universität

Zürich, 8057 Zürich, Schweiz

30.12.2015

Abschlussprüfung vet. med., Vetsuisse Fakultät
Universität Zürich, 8057 Zürich, Schweiz

Anfertigung der

Dissertation

03/2016- 04/2018

Anfertigung der Dissertation unter der Leitung von Dr.
med. vet. Dolf Kümmerlen, Oberarzt der Abteilung für
Schweinemedizin, Departement für Nutztiere,
Direktor: Prof. Dr. med. vet. Heiner Bollwein,
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, 8057 Zürich,
Schweiz